Gélose EMB (LEVINE)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose EMB, préconisée originellement par Levine, est utilisée pour isoler et identifier *Escherichia coli* et *Enterobacter*, ainsi que les bactéries intestinales à Gram négatif dans les produits pharmaceutiques, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Elle est également employée pour le contrôle des eaux comme milieu d'isolement et d'identification après culture en milieu liquide (test présomptif).

HISTORIQUE

En 1916, Holt-Harris et Teague employèrent une association d'éosine et de bleu de méthylène pour différencier les microorganismes suivant leur aptitude à fermenter ou non le lactose. Par la suite, Levine modifia la formule en supprimant le saccharose et en augmentant la concentration en lactose, ce qui permit de différencier aisément *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes*.

PRINCIPES

- L'éosine Y et le bleu de méthylène sont des agents faiblement sélectifs. Ils n'inhibent que partiellement le développement des microorganismes à Gram positif tels que les entérocoques.
- Ces colorants assurent la différenciation entre les germes lactose-positif et les germes lactose-négatif. Les coliformes donnent des colonies violettes à brunes tandis que les salmonelles sont incolores, transparentes ou ambrées.

PREPARATION

- Mettre en suspension 37,5 g de milieu déshydraté (BK056) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTA :

Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI

- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.
- Bien agiter de façon à oxyder le bleu de méthylène et assurer la mise en suspension homogène du précipité.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer en stries l'inoculum.
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

LECTURE

L'aspect des colonies est le suivant :

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies violet foncé, bombées, faiblement confluentes, de 2 à 3 mm de diamètre, à centre noir étendu à plus des 3/4 du diamètre et qui présentent un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchie	*Escherichia coli*
Colonies bleuâtres, à centre brun foncé, aplaties, plutôt confluentes, de 4 à 6 mm de diamètre, qui ne présentent qu' occasionnellement un éclat métallique	*Enterobacter aerogenes*
Colonies violettes à léger reflet métallique	*Citrobacter*
Colonies brunâtres, muqueuses	*Klebsiella*
Colonies ambrées, transparentes	*Salmonella* et *Shigella*

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine .....10,0 g
- Lactose .....10,0 g
- Phosphate dipotassique.....2,0 g
- Eosine Y.....0,4 g
- Bleu de méthylène .....65,0 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre violacée, fluide et homogène.
- Milieu préparé : gélose bordeaux, pouvant présenter un léger précipité après autoclavage.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 37°C (méthode qualitative d'ensemencement) :

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
Escherichia coli	ATCC® 25922	bonne, score 2	colonies violacées, à reflets métalliques verdâtres
Enterobacter aerogenes	ATCC 13048	bonne, score 2	colonies rose violacé
Salmonella Typhimurium	ATCC 14028	bonne, score 2	colonies incolores
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	bonne, score 2	colonies incolores
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	inhibée, score 0	

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu préparé en boîtes : 1 mois à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

PRESENTATION

	Code
Milieu déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK056HA

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Holt-Harris, J.E., and Teague, O. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosa* from stools. J. Infect. Dis., 18: 596.

Levine, M. 1918. Differentiation of *Escherichia coli* and *Aerobacter aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar. Jour. Inf. Dis., 23: 43-47.

Levine, M. 1921. Bacteria fermenting lactose and the significance in water analysis. Bull Iowa State College. Eng. Exp. Station.

Weld, J.T. 1952. *Candida albicans*. Rapide identification in pure cultures with carbon dioxyde on modified eosin methylene blue medium. Arch. Dermat. Syph., 66: 691-694.

Vogel, R.A., and Moses, M.R. 1957. Welds method for the rapid identification of *Candida albicans* in clinical materials. Am. J. Clin. Pathol., 28 (1): 103.

United States Pharmacopeia 26. 2003. Microbial Limit Tests, 2006-2011.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

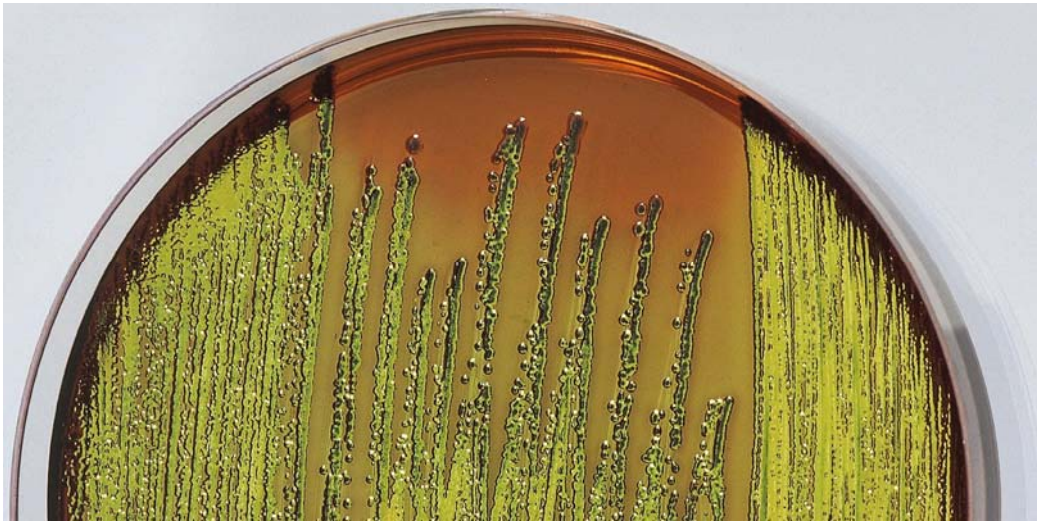
NF EN ISO 21150 (T 75-604). Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection d'*Escherichia coli*.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO

Référence produit : BK056HA

Utilisation : L'isolement et l'identification d'*Escherichia coli* et d'autres bactéries à Gram négatif.



Escherichia coli

Gélose EMB (Levine)
Réf : **BK056HA**
Incubation : 24 heures / 37°C
Caractéristiques : Colonies violet foncé, bombées, présentant un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchie.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-01-12.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK056/F/2001-04 : 5.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr